

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

In re Application of :

Hess-Stumpp et al.

Serial No. : 09/961,403

Filed : September 25, 2001

For : METHOD FOR IN VITRO DIAGNOSIS OF ENDOMETRIOSIS

**SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT(S)**

Assistant Commissioner for Patents  
Washington, D. C. 20231

Sir:

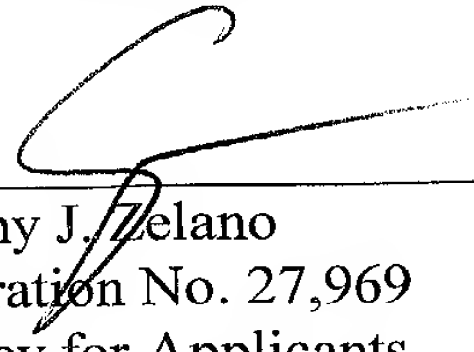
Submitted herewith is a certified copy of each of the below-identified document(s),  
benefit of priority of each of which is claimed under U.S.C. § 119:

<b><u>COUNTRY</u></b>	<b><u>APPLICATION NO.</u></b>	<b><u>FILING DATE</u></b>
<b>Germany</b>	<b>100 48 633.9</b>	<b>September 25, 2000</b>

Acknowledgment of the receipt of the above document(s) is requested.

No fee is believed to be due in association with this filing, however, the Commissioner is hereby authorized to charge fees under 37 CFR 1.16 and 1.17 which may be required to facilitate this filing, or credit any overpayment to Deposit Account #13-3402.

Respectfully submitted,

  
\_\_\_\_\_  
Anthony J. Zelano  
Registration No. 27,969  
Attorney for Applicants

MILLEN, WHITE, ZELANO  
& BRANIGAN, P.C.  
Arlington Courthouse Plaza 1  
2200 Clarendon Blvd. Suite 1400  
Arlington, Virginia 22201  
Telephone: (703) 243-6333  
Facsimile: (703) 243-6410

Attorney Docket No.: SCH-1789

Date: January 4, 2002

# BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

**Aktenzeichen:** 100 48 633.9

**Anmeldetag:** 25. September 2000

**Anmelder/Inhaber:** Schering AG, Berlin/DE

**Bezeichnung:** Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose

**IPC:** C 07 H, C 12 Q, G 01 N

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 27. September 2001  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
**Der Präsident**  
Im Auftrag

Ebert

## 5 Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose

Die Erfindung betrifft eine Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose.

Endometriose ist eine der häufigsten gynäkologischen Erkrankungen, von der schätzungsweise 5-10% aller Frauen im reproduktionsfähigen Alter betroffen sind (Sillem, M. 1998; Programmed<sup>®</sup> 23, Suppl. 1, 1-28). Sie ist gekennzeichnet durch das Vorkommen von Endometriumsgewebe außerhalb der physiologischen Schleimhautauskleidung des Uterus. Neben Schmerzen und zahlreichen anderen Symptomen sind viele Endometriosepatientinnen steril, und ein großer Teil der IVF-Patientinnen (IVF – in vitro Fertilisation) leidet an Endometriose (Adamson, G.D. 1997; Sem. Reprod. Biol. 15, 263-271). In jüngster Zeit mehren sich Publikationen, die für eine genetische Prädisposition bei der Entwicklung einer Endometriose sprechen (Kennedy, S. 1997; Sem. Reprod. Biol. 15, 309-318). So wurde der Verlust von Tumorsuppressormolekülen sowie familiäre Häufungen bei Endometriose-Patientinnen beschrieben.

Zur Zeit wird die Endometriose mit Hilfe der Laparoskopie diagnostiziert. Dies ist eine invasive Methode, die häufig zu Komplikationen führt (Chapron C. et al. 1998; Hum. Reprod. 13, 867-872; Jansen F. W. et al, 1997; Br. J. Obstet. Gynecol. 104, 595-600). Sie wird unter Narkose durchgeführt und setzt einen voll eingerichteten Operationssaal voraus.

Daher besteht ein Bedarf an neuen Diagnostikmethoden. Wünschenswert wäre eine Methode, die für die Patientinnen weniger belastend wäre und die vom behandelnden Arzt durchgeführt werden könnte.

Dieses Problem wird erfindungsgemäß gelöst durch die Identifizierung von bei der Endometriose differentiell regulierten Genen und die Bereitstellung einer Methode zur Detektion ihrer Genprodukte.

Die Erfindung betrifft eine Methode zur in vitro Diagnose von Endometriose wobei die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1,

5 Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV  
 alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde  
 Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer  
 Patientinnenprobe bestimmt wird und mit der Menge an diesem Genprodukt in einer  
 10 Kontrollprobe verglichen wird, wobei eine geringere Menge an diesem Genprodukt  
 auf das Vorliegen einer Endometriose hinweist.

Die Gruppe der Gene wird in Abbildung 1 näher beschrieben. Die Expressionsstärke,  
 d.h. die Menge des Genproduktes von mindestens einem der in Abbildung 1  
 genannten Gene in einer Patientinnenprobe wird bestimmt und mit der aus einer  
 Kontrollprobe (Frau ohne Endometriose) verglichen. Die zu vergleichenden Proben  
 15 müssen beide aus der sekretorischen Phase, also aus dem Bereich Tag 15-28 nach  
 der letzten Menstruation stammen. Eine verminderte Expressionsstärke von  
 mindestens einem der o.g. Gene in der Patientinnenprobe deutet auf das Vorliegen  
 einer Endometriose hin.

Eine Patientinnenprobe kann eine Probe vom Endometriumgewebe,  
 20 Peritonealflüssigkeit, Blut, vaginales Sekret oder Urin der Patientin sein.

Ein Genprodukt ist entweder mRNA, die daraus abgeleitete cDNA, ein Polypeptid  
 oder Teile eines Polypeptids. Die Aminosäuresequenzen der Polypeptide sind in  
 Abbildung 2 dargestellt.


Die erfindungsgemäße Methode kann zur erstmaligen Diagnose von Endometriose  
 25 eingesetzt werden. In diesem Fall wird die Menge des Genproduktes in der  
 Patientinnenprobe mit einer Kontrollprobe von nicht erkrankten Frauen verglichen.  
 Die erfindungsgemäße Methode kann auch zur Beurteilung des Verlaufs der  
 Krankheit verwendet werden. So kann z.B. der Erfolg einer Therapie bestimmt  
 werden. In diesem Fall wird die Patientinnenprobe mit einer älteren Probe derselben  
 30 Patientin verglichen.

Das Genprodukt Polypeptid oder ein Teilstück eines Polypeptids wird durch  
 Immunassays detektiert. Dazu werden spezifische Antikörper gegen eines oder  
 mehrere Polypeptide ausgewählt aus der in Abbildung 2 beschriebenen Gruppe,  
 hergestellt. Die Antikörper können monoklonal oder polyklonal sein. Sie können  
 35 gegen jeweils das gesamte Polypeptid oder gegen Fragmente davon gerichtet sein.  
 Die Gewinnung eines solchen Antikörpers erfolgt nach Standardmethoden durch

- 5 Immunisierung von Versuchstieren. Die Antikörper werden dann z.B. in einem ELISA (enzyme-linked-immunosorbent assay), in einem RIA (radioimmunoassay) oder in der Immunhistochemie zur Bestimmung der Menge des Genproduktes verwendet (Aoki, K. et al. 1996; Forensic Sci. Int. 80, 163-173).

Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung eines erfindungsgemäßen Antikörper-Chips zur Diagnose von Endometriose. Antikörper-Chips sind miniaturisierte Träger, meist aus Glas oder Silizium, auf deren Oberfläche Antikörper bekannter Spezifität in einem geordneten Raster in hoher Dichte immobilisiert werden. Die Detektion der Protein/Protein Interaktionen kann durch Massenspektrometrie, Fluoreszenz oder surface plasmon resonance erfolgen. Es können Antikörper, welche die aus der in  
 10 Abbildung 2 beschriebenen Gruppe ausgewählten Proteine spezifisch binden, auf dem Antikörper-Chip immobilisiert sein. Methoden zur Herstellung und Verwendung von Antikörper-Chips sind in Kreider BL, Med Res Rev 2000,20:212-215 beschrieben.

Die Genprodukte mRNA bzw. die daraus abgeleitete cDNA können durch  
 20 Hybridisierung mit Oligonukleotiden, z.B. durch einen Northern blot bestimmt werden. Diese Oligonukleotide haben Sequenzen, die komplementär zu Teilsequenzen des zu detektierenden Genprodukts sind, und können z.B. mit einer chromogenen, radioaktiven oder fluoreszierenden Gruppe markiert sein. Vor der Hybridisierung kann die cDNA mit Hilfe der PCR amplifiziert werden (Sambrook, J. et al. 1989; Cold  
 25 Spring Harbor Laboratory Press).

 Die Genprodukte mRNA bzw. die daraus abgeleitete cDNA können auch durch quantitative PCR (polymerase chain reaction) bestimmt werden.

Die mRNA kann auch durch *in situ* Hybridisierung mit antisense-RNA bestimmt werden. Dabei kann die antisense-RNA mit Dioxigenin,  $^{32}\text{P}$  oder  $^{33}\text{P}$  markiert sein.  
 30 Antisense Nukleinsäure ist eine DNA und/oder RNA, die komplementär zu einer mRNA ist. Sie kann die gesamte komplementäre Sequenz oder Teilsequenzen umfassen. Diese Methode ist dem Fachmann bekannt (Barlati, S. et al. 1999; Histol. Histopathol. 14, 1231-1240).

Die Hybridisierung kann auch mit Hilfe eines DNA-Chips erfolgen. Die Erfindung  
 35 betrifft daher weiterhin einen DNA – Chip, auf dem mindestens ein Oligonukleotid immobilisiert ist, das der vollständigen cDNA-Sequenz oder einer Teilsequenz bzw.

5 komplementären Sequenz eines Genes ausgewählt aus der Gruppe, die in  
Abbildung 1 beschrieben ist, entspricht. Die Erfindung betrifft somit ferner die  
Verwendung eines erfindungsgemäßen DNA-Chips zur Diagnose von Endometriose.

DNA-Chips, auch als DNA-Mikroarrays bekannt, sind miniaturisierte Träger, meist  
aus Glas oder Silizium, auf deren Oberfläche DNA-Moleküle bekannter Sequenz in  
10 einem geordneten Raster in hoher Dichte immobilisiert werden. Die Oberflächen-  
gebundenen DNA-Moleküle werden mit komplementären, eventuell markierten  
Nukleinsäuren hybridisiert. Die Markierung kann ein Fluoreszenzfarbstoff sein.

Bei Oligonukleotid-Chips stellen die Oligonukleotide, die auf einem  
erfindungsgemäßen DNA-Chip gebunden sein können, Teilsequenzen der  
15 Genprodukte (mRNA bzw. daraus abgeleitete cDNA) in der Sense- oder Antisense-  
Richtung dar. Es können ein oder mehrere Oligonukleotide pro Gen auf dem DNA-  
Chip gebunden sein. Bevorzugt sind 25 Nukleotid-lange Oligonukleotide, die aus  
dem nicht kodierenden Strang abgeleitet sind. Diese werden bevorzugt aus dem  
jeweiligen 3'untranslatierten Ende des Gens ausgewählt. Zur Detektion können  
20 Oligonukleotide von einem Gen, mehreren Genen oder allen Genen ausgewählt aus  
der in Abbildung 1 beschriebenen Gruppe eingesetzt werden. Methoden zur  
Herstellung und Verwendung von DNA-Chips sind z.B. in den US-Patenten Nr.  
5,578,832; 5,556,752 und 5,510,270 beschrieben.

Bei cDNA Chips sind die vollständigen Genprodukte (cDNAs) oder Subfragmente  
25 (200-500bp lang) auf dem Chip gebunden. Die Methode wird z. B. in Eckmann, L. et  
al., J Biol Chem 2000, 275: 14084-14094 beschrieben.

Das Genprodukt mRNA kann auch durch chromogene Assays bestimmt werden.



## 5 Beschreibung der Abbildungen

Abb. 1 zeigt die Liste der Gene, die in der sekretorischen Phase bei Vorliegen einer Endometriose herunterreguliert sein können und damit für eine Diagnostik der Endometriose verwendet werden können. In Spalte 1 sind die Namen und die Datenbank-Nummer (Accession Numbers) der Gene aufgelistet, die bei der Analyse als differentiell reguliert gefunden wurden. In Spalte 2 findet sich der Vergleich von Proben aus der sekretorischen Phase (sekr. Phase), jeweils *Endometriose* versus *Normal* (keine Endometriose); *down* bezeichnet den Zustand der Herunterregulation. Die erste Zahl in Klammern gibt an, wie oft das Gen als heraufreguliert und die zweite Zahl gibt an, wie oft das Gen als herunterreguliert gefunden wurde. Für diese Analyse wurden 20 Einzelvergleiche durchgeführt. In Spalte 3 findet sich der Vergleich von Proben aus der proliferativen Phase (prol. Phase). Für diese Analyse wurden 30 Einzelvergleiche durchgeführt. Die Bezeichnung *down* beschreibt den gleichen Zustand wie in Spalte 1, *nc* bedeutet *no correlation* (keine Korrelation), d.h. man findet dieses Gen sowohl herunter- als auch heraufreguliert. Die Bedeutung der Zahlen ist analog zu Spalte 2. In der vierten Spalte findet sich der Vergleich von Proben aus der sekretorischen Phase mit Proben aus der proliferativen Phase. Hier wurde Endometrium von Frauen ohne Endometriose miteinander verglichen. Für diese Analyse wurden 25 Einzelvergleiche durchgeführt. Die Bezeichnung *up* beschreibt den Zustand der Heraufregulation. Die Bedeutung der Zahlen ist analog zu Spalte 2.

Abbildung 2 zeigt eine Liste der Polypeptide, die von den in Abbildung 1 dargestellten Genen kodiert werden und bei Vorliegen einer Endometriose vermindert exprimiert werden.

## 30 Beispiele

Die in den Beispielen verwendeten molekularbiologischen Methoden wie z.B. Isolierung von RNA, Sequenzierung von DNA, RNase Protection, Northern Blot Analyse, Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden nach Standardprotokollen, wie in bekannten Lehrbüchern wie z.B. in *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*

- 5 (Sambrook, J. et al. 1989; Cold Spring Harbor Laboratory Press) beschrieben, durchgeführt. Methoden für Subtraktionsanalysen der Genexpression sind z.B. in Liang, P. und Pardee, A. B. 1995; Curr. Opin. Immunol. 7, 274-280 beschrieben.

### Beispiel 1: Identifizierung von Endometriose-assoziierten Genen

- 10 Gene, die mit dem Krankheitsbild der Endometriose assoziiert sind, wurden durch Vergleich von Endometriumproben folgender Patientinnengruppen identifiziert:

1. Proliferative Phase: Tage 4-14 nach der letzten Menstruation. Diese Gruppe setzte sich aus Patientinnen zusammen, bei denen aufgrund von Leiomyomen eine Hysteroskopie oder Hysterektomie durchgeführt wurde.
- 15 2. Sekretorische Phase: Tage 15-28 nach der letzten Menstruation. Diese Gruppe setzte sich aus Patientinnen zusammen, wie unter 1. beschrieben.
3. Proliferative Phase plus Endometriose: Tage 4-14 nach der letzten Menstruation. Die Patientinnen dieser Gruppe litten an Endometriose.
4. Sekretorische Phase plus Endometriose: Tage 15-28 nach der letzten  
20 Menstruation. Die Patientinnen dieser Gruppe litten an Endometriose.

Endometrium von Frauen mit Endometriose wurde mittels einer Strichcurettage gewonnen. Das Endometrium der Vergleichsgruppe wurde von Frauen im Rahmen einer Hysteroskopie oder einer Hysterektomie, die wegen eines Leiomyoms  
vorgenommen wurde, gewonnen. Das Gewebe wurde nach der Entnahme in  
25 flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Anschließend wurde Gesamt-RNA aus den Proben extrahiert. Diese RNA wurde amplifiziert, durch einen Fluoreszenzmarker markiert, und mit einem DNA-Chip (Human SL array der Firma Affymetrix, enthaltend Oligonukleotide für ca. 7000 humane Gene) hybridisiert. Nach dem Hybridisierungsverfahren wurde der DNA-Chip in einem Scanner analysiert. Die  
30 Hybridisierungsmuster aller Gensequenzen, die sich auf dem Chip befinden, wurden zwischen allen Proben verglichen. Insgesamt wurden 20 Einzelvergleiche mit Proben aus der sekretorischen Phase und 30 Einzelvergleiche mit Proben aus der proliferativen Phase durchgeführt bei denen jeweils eine Probe von einer Frau mit Endometriose stammte und eine Probe von einer Frau, die nicht an Endometriose litt.



- 5 Als differentiell reguliert betrachtet wurden alle diejenigen Gene, die in mindestens der Hälfte der Fälle (10 Vergleiche) um mindestens den Faktor 1.5 gegenüber der Kontrollgruppe (Proben von Frauen ohne Endometriose) herauf- oder herunterreguliert waren. Außerdem wurden 25 Einzelvergleiche von Proben aus der sekretorischen Phase mit Proben aus der proliferativen Phase durchgeführt. Hier  
10 wurde Endometrium von Frauen ohne Endometriose verglichen.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt. Die aufgelisteten Gene können als Differenzierungsmarker betrachtet werden. Ausgehend von der Betrachtung, daß die proliferative Phase, dem Namen entsprechend von proliferativen Prozessen dominiert wird, wird die sekretorische Phase eher als Differenzierungsphase  
15 angesehen. Vor diesem Hintergrund sollten Gene, die für die Differenzierung von Bedeutung sind, während dieser Phase heraufreguliert werden (vergleiche mit Abbildung 1, Spalte 4) und während der proliferativen Phase herunterreguliert oder gleichbleibend reguliert sein (vergleiche mit Abbildung 1, Spalte 3). Die Gene, die in  
20 Spalte 1 aufgelistet sind, erfüllen diese Kriterien und werden daher als Differenzierungsmarker bezeichnet. Dass diese Gene bei Frauen mit Endometriose herunterreguliert sind (Spalte 2), deutet auf eine gestörte Differenzierung in der sekretorischen Phase hin.

## **Beispiel 2: Diagnostik von Endometriose**

### **25 1. Probengewinnung**

- Für die DNA-Chip-Analyse wird Endometriumgewebe aus Patientinnen gewonnen und Gesamt-RNA daraus isoliert. Die RNA wird dann amplifiziert und an einen Fluoreszenzmarker gekoppelt. Für den Immunttest kann Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret, Urin oder Endometriumgewebe von der Patientin gewonnen werden.

### **30 2. Detektion der Genprodukte**

#### **2a. mit Hilfe eines DNA-Chips**

Zuerst werden die geeigneten DNA-Sequenzen aus den Genen, die aus der in Abbildung 1 beschriebenen Gruppe ausgewählt werden, bestimmt. Geeignet sind Sequenzen, die mit den ausgewählten Gentranskripten hybridisieren können. Die

- 5 Oligonukleotide werden dann durch einen chemischen Prozess, der auf photolithographischen Verfahren basiert, auf dem Chip hergestellt. Dazu werden photolithographische Masken verwendet, die durch geeignete Computer-Algorithmen erzeugt wurden.

- Die markierte RNA wird mit dem Chip in einem Hybridisierungssofen inkubiert.  
10 Anschliessend wird der Chip in einem Scanner analysiert, der die Hybridisierungsprofile bestimmt. Dadurch kann festgestellt werden, ob in der sekretorischen Phase eines oder mehrere der Gene der in Abbildung 1 aufgelisteten Gene runterreguliert ist, was auf eine Endometriose hinweist.

## 2b. durch Immuntest

- 15 Für die Durchführung eines Immuntestes benötigt man spezifische Antikörper, die an die in Abbildung 2 beschriebenen Polypeptide binden. Die Antikörper können mono- oder polyklonale Antikörper sein, die gegen die aufgereinigten Proteine, Peptide, ausgewählt aus den kodierten Proteinen, oder rekombinant hergestellte Fragmente oder Gesamtprotein gerichtet sind.
- 20 Erfolgt die Analyse mittels Immunohistochemie verwendet man Endometrium, das der zu analysierenden Patientin entnommen wurde. Nach geeigneter Fixierung des Gewebes, z.B. mittels Formaldehyd und anschließender Einbettung in Paraffin kann das Gewebe für die immunhistochemische Analyse verwendet werden. Dazu werden von dem fixierten und eingebetteten Gewebe mit einem Mikrotom Schnitte
- 25 geeigneter Dicke, z.B. 4  $\mu\text{m}$ , angefertigt. Der oder die spezifischen Antikörper werden dann mit den weiter vorbereiteten Gewebeschnitten (z.B. Deparaffinierung, Blocken) eine Zeitlang unter geeigneten Temperaturbedingungen, z.B. 1h bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Waschschritten mit einer geeigneten Lösung, z.B. PBS, werden die Schnitte in einem 2. Schritt mit einem geeigneten zweiten Antikörper
- 30 inkubiert, der für die nachfolgenden Reaktionen, z.B. biotiniliert ist. Der 2. Antikörper bindet an die für die jeweilige Spezies konstante Region des 1. Antikörpers. Nach geeigneter Inkubationszeit und Waschschritten wird nun in einem dritten Schritt die Gewebeprobe z.B. mit Horse-Redish Peroxidase, gekoppelt an Streptavidin, inkubiert. Nach geeigneter Inkubationszeit und Waschschritten wird nun in einem
- 35 letzten Schritt durch Zugabe eines geeigneten Farbstoffs, z.B. DAB, von der Peroxidase eine Enzymreaktion katalysiert, die zu einer Farbreaktion dort führt, wo

immunosorbent assay) wird der polymere Trägermatrix, z.B. man den oder die fixierten Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Waschvorgängen wird in einem einer anderen Stelle des zu Antikörper trägt zusätzlich noch ein e. Dieses Enzym katalysiert nun eines farblosen Substrats in ein fluoreszierendes Substrat in ein Die Menge des farbigen oder messen werden. Da die Menge des Antigen des Antigens proportional ist, s oder Fluoreszenzproduktes für Extrakt vorhandenen Polypeptide

5 der 1. Antikörper spezifisch gebunden hat. Nach Abstoppen der Enzymreaktion und Waschschritten kann der Gewebeschnitt nun getrocknet, fixiert und mit einem Deckgläschen versehen, unter dem Mikroskop analysiert werden. Um zu entscheiden, ob in der Gewebeprobe ein quantitativer oder auch qualitativer Unterschied besteht, muß eine entsprechende Kontrolle einer Probe von einer Frau  
10 ohne Endometriose als Vergleich herangezogen werden.

Erfolgt die Analyse mittels Westernblot werden die gewonnenen Gewebeproben oder Extrakte aus der Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret oder Urin mittels einer Polyacrylamid-Gelelektrophorese aufgetrennt. Nach der Auftrennung werden die in dem Gel aufgetrennten Polypeptide durch Anlegen eines elektrischen Stroms auf  
15 eine geeignete Trägermembran, z.B. Nitrozellulose, überführt. Die auf der Trägermembran fixierten Proteine werden nun in einem 1. Schritt mit dem oder den spezifischen Antikörpern inkubiert. Nach geeigneten Waschvorgängen, z.B. mit TBS/TBST, wird die Trägermembran in einem 2. Schritt mit einem 2. Antikörper inkubiert, der an die für die jeweilige Spezies konstante Region des 1. Antiköpers  
20 bindet. Der 2. Antikörper kann eine radioaktive Markierung tragen oder ein gekoppeltes Enzym, z.B. alkalische Phosphatase, die in einer nachfolgenden Farbreaktion ein farbloses Substrat in ein farbiges Substrat umwandelt. Da die Menge des an dem Antigen gebundenen des 2. Antikörpers derjenigen des Antigens proportional ist, kann daher die Menge des gemessenen Farbstoffs für eine  
25 quantitative Analyse des oder der in dem Extrakt vorhandenen Polypeptide genutzt werden.

Erfolgt die Analyse mittels eines Festphasenimmunoassays wird der oder die spezifischen Antikörper an eine polymere Trägermatrix, z.B. Polyvinylchlorid, gebunden. Anschließend inkubiert man den oder die fixierten Antikörper mit dem  
30 Extrakt, der aus z.B. aus der Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret oder Urin gewonnen wurde. Nach geeigneten Waschvorgängen wird in einem 2. Schritt ein 2. Antikörper hinzugegeben, der an einer anderen Stelle des zu detektierenden Antigens spezifisch bindet. Der 2. Antikörper trägt z.B. eine radioaktive oder Fluoreszenzmarkierung und kann daher in einem 3. Schritt hochempfindlich  
35 nachgewiesen werden. Die an dem Antigen gebundene Menge des 2. Antikörpers ist derjenigen des Antigens proportional und kann daher für eine quantitative Analyse des oder der in dem Extrakt vorhandenen Proteine genutzt werden.

## 5 Ansprüche

1. Methode zur in vitro Diagnose von Endometriose, dadurch gekennzeichnet, daß die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer Patientinnenprobe bestimmt wird und mit der Menge an diesem Genprodukt in einer Kontrollprobe verglichen wird, wobei eine geringere Menge an diesem Genprodukt auf das Vorliegen einer Endometriose hinweist.
2. Verwendung von Antikörpern gegen ein oder mehrere Proteine kodiert von Genen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon oder gegen Teile des Polypeptids oder der Proteine zur Diagnose von Endometriose.
3. DNA – Chip, dadurch gekennzeichnet, daß auf dem Chip mindestens ein Oligonukleotid, das eine Teilsequenz einer DNA ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon oder deren komplementären Sequenz umfaßt, gebunden ist.
4. Verwendung eines DNA-Chips nach Anspruch 3 zur Diagnose von Endometriose.

## 5 Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Methode zur Diagnose von Endometriose wobei die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer Patientinnenprobe bestimmt wird.



Datenbank-Nr., Name	Vergleich Endometriose versus Normal (sekr. Phase)	Vergleich Endometriose versus Normal (prol. Phase)	Vergleich sekr. versus prol. Phase (Endometrium)
X02761, fibronectin (FN precursor)	down (0 up - 16 down)	down (4 up -12 down)	up (18 up - 1 down)
S37730, insulin-like growth factor binding protein-2	down (1-15)	nc (13-13)	up (17-2)
U40271, Human transmembrane receptor precursor (PTK7)	down (0-14)	nc (6-2)	up (9-1)
M21574, platelet-derived growth factor receptor alpha (PDGFRA)	down (0-13)	nc (8-10)	up (17-0)
L22548, collagen type XVIII alpha 1 (COL18A1)	down (0-13)	down (0-8)	up (17-0)
M80482, subtilisin-like protein (PACE4)	down (1-13)	down (4-13)	up (22-2)
Z26653, laminin M chain (merosin)	down (1-13)	nc (9-10)	up (17-1)
M36860, U77846, Elastin	down (0-12)	nc (0-0)	up (25-0)
X05610, type IV collagen alpha -2 chain	down (0-12)	nc (3-3)	up (11-0)
X67325, p27 interferon alpha-inducible gene	down (1-12)	nc (9-10)	up (10-2)

Abbildung 1



Datenbank-Nr., Name	Vergleich Endometriose versus Normal (sekr. Phase)	Vergleich Endometriose versus Normal (prol. Phase)	Vergleich sekr. versus prol. Phase (Endometrium)
D42073, reticulocalbin	down (0-11)	nc (8-5)	up (11-2)
U07919, aldehyde dehydrogenase 6	down (1-11)	nc (13-9)	up (22-0)
U81607, gravin	down (1-11)	nc (8-7)	up (18-1)
M30269, nidogen	down (0-10)	nc (8-14)	up (15-3)
D42108, phospholipase C Epsilon	down (1-10)	nc (12-14)	up (25-0)

Abbildung 1

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
1	Fibronektin	<p>MLRGPGLL LLAVQCLGTA VPSTGASKSK RQAQMVQPQ SPVAVSQSKP GCYDNGKHYQ INQQWERTYL</p> <p>GNALVCTCYG GSRGFNCESK PEAETCFDK YTGNTYRVGD TYERPKDSMI WDCTCIGAGR GRISCTIANR</p> <p>CHEGGQSYKI GDTWRRPHET GGYMLECVCL GNGKGWTKK PIAEKCFDHA AGTSYVVGET WEKPYQGWM</p> <p>VDCITCLGEGS GRITCTSRNR CNDQDTRTSY RIGDTWSKKD NRGNLLQCIC TNGRGEWKC ERHTSVQTT</p> <p>SGSGPFTDVR AAVYQPQPHP QPPPYGHCVT DSGVVYSVGM QWLKTQGNKQ MLCTCLGNV SCQETAVTQT</p> <p>YGGNSNGEPC VLPFTYNGRT FYSCTEGRQ DGHLCSTTS NYEQDQKYSF CTDHTVLVQT QGGNSNGALC</p> <p>HFPLYNNHN YTDCTSEGR DNKWCCTTQ NYDADQKFGF CPMAAHEEIC TTNEGVMYRI GDQWDKQHDM</p> <p>GMMRCTCVG NRGEWTCIA YSQLRDQCI VDDITYNVNDT FHKRHEEGHM LNCTCFGQGR GRWKCDPVDQ</p> <p>CQDSETGTFY QIGDSWEKYV HGVRYQCICY GRGIGEWHCQ PLQTYPSSSG PVEVFITETP SQPNSHPIQW</p> <p>NAPQSHISK YILWRPKNS VGRWKEATIP GHLSYTIKG LKPGVVYEGQ LISIQQYGHQ EVTRFDFTT</p> <p>STSTPVSNT VTGETTFPSP LVATSESVTE ITASSFVSW VSASDTVSGF RVEYELSEEG DEPYLDLPS</p> <p>TATSVNIPDL LPGRKYIVNV YQISEDGEQS LILSTSQTTA PDAPPDPTVD QVDDTSIVVR WSRPQAPITG</p> <p>YRIVYSPSVE GSSTELNLE TANSVTLSDL QPGVQYNITI YAVEENQEST PVVIQQETT TPRSDTVPS</p> <p>RDLQFVEVTD VKVTIMWTPP ESAVTGYRVD VIPVNLPGEH GQRLPISRNT FAEVTGLSPG VTYFYKVF</p> <p>SHGRESKPLT AQQTTKLDAP TNLQFVNETD STVLVRWTPP RAQITGYRLT VGLTRRGQPR QYNVGPSVSK</p> <p>YPLRNLPAS EYTVSLVAIK GNQESPKATG VFTTLQPGSS IPPYNTTEVTE TTIVITWTPA PRIGFKLGVR</p> <p>PSQGEAPRE VTSDSGSIVV SGLTPGVEYV YTIQVLRDQ ERDAPIVNVK VTPLSPTNL HLEANPD</p> <p>LTVSWERSTT PDITGYRITT TPTNGQQGNS LEEVVHADQS SCTFDNLSPG LEYNVSVYTV KDDKESVPIS</p> <p>DTIIPAVPPP TDLRFTNIGP DTMRVTWAPP PSIDLNTFLV RYSPVKNEED VAELSISPSD NAVVLNLLP</p> <p>GTEYVSVSS VYEQHESTPL RGRQKTGLDS PTGIDFSDIT ANSFTVHWIA PRATITGYRI RHHPEHFSGR</p> <p>PREDRVPHSR NSITLTNLTG GTEYVVSIVA LNGREESPLL IGQOSTVSDV PRDLEVVAAT PLSLLISWDA</p>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		PAVTVRYRI TYGETGNSP VQEFVTPGSK STATISGLKP GVDYTTITVYA VTGRGDSPAS SKPISINYRT EIDKPSQMQV TDVQDNSISV KWLPSSSPVT GYRVTTTPKN GPGPTTKTKTA GPDQTEMTIE GLQPTVEYVV SVYAQNPSGE SQPLVQTAVT NIDRPKGLAF TDVDVDSIKI AWESPQGQVS RYRVTYSSPE DGIHELFPAP DGEEDTAELQ GLRPGSEYTV SVVALHDDME SQPLIGTQST AIPAPTDLKF TQVTPTSLSA QWTPPNVQLT GYRVRVTPKE KTGPMKEINL APDSSSVVVS GLMVATKYEY SVYALKDILT SRPAQGVVTT LENVSPPRRA RVTDATETI TISWRKTET ITGFQVDAVP ANGQTPIQRT IKPDVRSYTI TGLQPGTDYK IYLYTLNDNA RSSPVVIDAS TAIDAPSNLR FLATTPNSLL VSWQPPRARI TGYIIKYEKP GSPPREVVPR PRPGVTEATI TGLEPGTEYT IYVIALKNNQ KSEPLIGRKK TDELPQLVTL PHPNLHGPEI LDVPSTVQKT PFVTHPGYDT GNGIQLPGTS GQQPSVGQQM IFEEHGFRRRT TPPTTATPIR HRPRYPNNV GEEIQIGHIP REDVDYHLYP HGPGLNPNAS TGQEALSQTT ISWAPFQDTS EYIISCHPVG TDEEPLQFRV PGTSTSATLT GLTRGATYNI IVEALKDQQR HKVREEVVTV GNSVNEGLNQ PTDDSCFDPY TVSHYAVGDE WERMSESGFK LLCQCLGFGS GHFRCDSSRW CHDNGVNYKI GEKWDROGEN GQMMSCITLG NGKGEFKCDP HEATCYDDGK TYHVGEQWQK EYLGAICSCT CFGGQRGWRC DNCRRPGGEP SPEGTTGQSY NQYSQRYHQY TNTNVNCPTE CFMPLDVQAD REDSRE
2	Insulin-like growth factor binding protein-2	MLPRVGCAL PLPPPLLLPL LPLLLLLLGA SGGGGGARAE VLFRCPPCTP ERLAACGPPP VAPPAVAAV AGGARMPCAE LVREPGCGCC SVCARLEGEA CGVYTPRCGQ GLRCYPHPGS ELPLQALVMG EGTCEKRRDA EYGASPEQVA DNGDDHSEGG LVENHVDSTM NMLGGGGSAG RKPLKSGMKE LAVFREKYTE QHRQMGKGGK HHLGLEEPK LRPPPARTPC QQELDQVLER ISTMRLPDER GPLEHLYSLH IPNCDKHGLY NLKQCKMSLN QQRGECWCVN PNTGKLIQGA PTIRGDPECH LFYNEQQEAR GVHTQRMQ

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
3	Transmembrane receptor PTK7	MGAARGSPAR PRRLLPLLSVL LLPLLGGTQT AIVFIKQPSS QDALQRRAL LRCEVEAPGP VHVYWLLDGA PVQDTERRFA QGSSLSFAAV DPLQDSGTFQ CVARDDVTGE EARSANASFN IKWIEAGPVV LKHPASEAEI QPQTQVKLRC HIDGHPRPTY QWFRDGTPLS DGQSNHTVSS KERNLTLRPA GPEHSGLYSC CAHSAFSQAC SSQNFLLSIA DESFARVULA PQDVVVVARYE EAMFHCQFSA QPPPSLQWLF EDETPITNRS RPPHLRRATV FANGSLLLTQ VRPRNAGIYR CIGQGQRGPP IILEATLHLA EIEDMPLFEP RVFTAGSEER VTCLPPKGLP EPSVWWEHAG VRLPTHGRVY QKGHELVLAN IAESDAGVYT CHAANLAGQR RQDVNITVAT VPSWLKKPQD SOLEEGKPGY LDCLTQATPK PTVVWYRNQM LISEDSRFEV FKNGTLRINS VEVYDGTWYR CMSSTPAGSI EAQAVLQVLE KLKFTPPPPQ QQCMGFDKEA TVPCSATGRE KPTIKWERAD GSSLPEWVTD NAGTLHFARV TRDDAGNYTC IASNGPQGQI RAHVQLTVAV FITFKVEPER TTVYQGHYAL LQCEAQGDPK PLIQWKGKDR ILDPTKLGR MHIFQNGSLV IHDVAPEDSG RYTCIAGNSC NIKHTEAPLY VVDKVPPEES EPGSPPPYK MIQTIGLSVG AAVAYIIAVL GLMFYCKKRC KAKRLQKQPE GEEPEMECLN GGPLQNGQPS AEIQEEVALT SLGSGPAATN KRHSTSDKM HPRSSLQIPIT TLGKSEFGEV FLAKAQGLEE GVAETLVLVK SLQSKDEQQQ LDFRRELEMF GKLNHANVVR LLGLCREAEP HYMVLEYVDL EDLKQFLRIS KSKDEKLKSQ PLSTKQKVAL CTQVALGMEH LSNNRFVHKD LAARNCLVSA QRQVKVSALG LSKDVYNSEY YHFRQAWVAL RWMSPEAILE GDFSTKSDVW ASGVLWWEVF THGEMPHGGQ ADDEVLDLQ AGKARLPQPE GCPSKLYRLM QRCWALSPKD RPSFSEIASA LGDSTVDSPK
4	Platelet-derived growth factor receptor alpha	MGTSHPAFLV LGCLLTGLSL ILCQLSLPSI LPNENEKVVO LNSSFSLRCF GESEVSWQYP MSEEESDVE IRNEENNSGL FVTVLEVSSA SAAHTGLYTC YYNHTQTEEN ELEGRHIYIY VPDPDVAFVP LGMTDYLVIV EDDDSAIIPC RTTDPETPVT LHNSEGVVPA SYDSRQGFNG TFTVGPYICE ATVKGKKFQT IPFNVYALKA

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		<p> TSELDLEMEA LKTVYKSGET IVVTCVFN EVVDLQWTYP GEVKGKGITM LEEIKVPSIK LVYTLTVPEA  TVKDSGDYEC AARQATREVK EMKKVTISVH EKGFEIKPT FSQLEAVNLH EVKHFVVEVR AYPPPRISWL  KNNLTLIENL TEITTDVEKI QEIRYRSKLK LIRAKEEDSG HYTIVAQNEH AVKSYTFELL TQVPSSILDL  VDDHHGSTGG QTVRCTAEGT PLPDIEWMIC KDIKKCNNEH SWTILANNVS NIITEIHSRD RSTVEGRVTF  AKVEETIAVR CLAKNLLGAE NRELKLVAPT LRSELTVAHA VLVLVIVII SLIVLVVINK QKPRYEIRWR  VIESISPDGH EYIYVDPMQL PYDSRWEFPR DGLVLGRVLG SGAFGKVVEG TAYGLSRSQP VMKVAVKMLK  PTARSSEKQA LMSELKIMTH LGPHLNIVNL LGACTKSGPI YIITEYCFYG DLVNYLHKNR DSFLSHHPEK  PKKELDIFGL NPADESTRSY VILSFENNGD YMDMKQADTT QYVPMLEKE VSKYSIDIORS LYDRPASYYK  KSMLDSEVKN LLSDDNSEGL TLLDLLSFTY QVARGMEFLA SKNCVHRDLA ARNVLLAQK IVKICDFGLA  RDIMHDSNYV SKGSTFLPVK WMAPESIFDN LYTTLSDVWS YGILLWEIFS LGGTPYPGMM VDSIFYNKKIK  SGYRMAKPDH ATSEVYEIMV KCWNSEPEKR PSFYHLSEIV ENLLPGQYKK SYEKIHLDFL  KSDHPAARMVDSNDAYIG VTYKNEEDKL KDWEGLDEQ RLSADSGYII PLPDIDPVPE EEDLGKRNH  SSQTSEESAI ETGSSSSTFI KREDETIEDI DMDDIGIDS SDLVEDSFL </p>
5	Collagen XVIII alpha 1 type	<p> GEVGADGIPG FPGLPREGI AGPQPKGDR GSRGEKDPG KDGLGQPLP GPRGPPGPV YVSEQDGSVL  SVPGEGRRG FAGFPGAGP KGNLGSKGEL GSPGPKGEK EPGSIFSPDG GALGPAQKGA KGEFGFRGPP  GLYGRPGYKG EIGFPRPGR PGMNGLKGEK GEPGDASLGF GMRGMPGPG PPGPPGPPGT PVYDSNVFAE  SSRPGPPGLP GNQGGPPGPKG PKGEVGPVPG PQQFPDFLQ KEAEMKGEK DRGDAGQKE RGEPPGGGFF  GSSLPGAPGA PGPRGYPGIP GPKGESIRGQ PGPPGQGP GIGYEGRQGP PGPPGPPGPP SFGPHRQTI  SVPGGPPPG PPGPPGTMGA SSGQVRLWAT RQAMLGQVHE VPEGWLFVA EQEELYVRVQ NGRKVVQLEA  RTPLPRGTDN EVAALQPPV QLHDSNPYPR REHPHTARP WRADDILASP PGLPEPQYP GPHHSSVH  CGPARPTSPP AHSRDFQPV LHLVALNSPL SGMRGIRGA DFQCFQARA VGLAGTFRAF LSSRLQDLYS </p>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		IVRRADRAAV PIVNLKDELL FPSWEALFSG SEGPLKPGAR IFSFDGKDV L RHPTWPQKSV WHGSDPNGR LTESYCE TWR TEAPSATGQA SSLGGRLLG QSAASCHHAY IVLCIENSFM TASK
6	Subtilisin-like protein (PACE4)	MPPRAPAPG PRPPPRAAAA TDTAAGAGGA GGAGGAGGPG FRPLAPRPWR WLLLLALPAA CSAPPPRPVY TNHWAVQVLG GPAEADRVAA AHGYLNLGQI GNLEDYYHFY HSKTFKRSTL SSRGPHFTLR MDPQVKWLQQ QEVKRRVKRQ VRSDPQALYF NDPIWSNMWY LHCGDKNSRC RSEMNVAQAAW KRGYTGKNVV VTILDDGIER NHPDLAPNYD SYASYDVNGN DYDPSPRYDA SNENKHGTRC AGEVAASANN SYCIVGIAYN AKIGGIRMLD GDVTDVVEAK SLGIRPNYID IYSASWGPDD DGKTVDPGR LAKQAFYGI KKGROGLGSI FVWASGNGGR EGDYCSCDGY TNSIYTISSVS SATENGYKPPW YLEECAS TLA TTYSSGAFYE RKIVTTDLRQ RCTDGHGTGS VSAPMVAGII ALALEANSQ L TWRDVQHLLV KTSRPAHLKA SDWKVNGAGH KVSHFYGFGL VDAEALVVEA KKWTAVPSQH MCVAASDKRP RSIPLVQVLR TTALTSACAE HSDQRVVYLE HVVVRTSISH PRRGDLQIYL VSPSGTKSQL LAKRLLDLSN EGFTNWEFMT VHCWGEKAEG QWTLEIQDLP SQVRNPEKQG KLKEWSLILY GTAEHYPYHTF SAHQSRSRML ELSAPELEPP KAALSPSQVE VPEDDEEDYTA QSTPGSANIL QTSVCHPECG DKGCDGPNAD QCLNCVHFSL GSVKTSRKC V SVCPLGYFGD TAARRCRRCH KGCETCSSRA ATQCLSCRRG FYHHQEMNTC VTLCFAGFYA DESQKNCLKC HPSCKKCVDE PEKCTVCKEG FSLARGSCIP DCEPGTYFDS ELIRCGECHH TCGTCVGPGR EECIHCAKNF HFHDWKCVPA CGEGFYPEEM PGLPHKVCRR CDENCLSCAG SSRNC SRCKT GFTQLGTSCI TNHTCSNADE TFCMVKSNR LCERKLFIQF CCRTCLLAG
7	Laminin M chain (Merodin)	MPGAAGVLLL LLLSGGLGV QAQRQQQRQ SQAHQQRGLF PAVNLASNA LITTNATCGE KGPAMYCKLV EHVPGQPV RN PQCRICNQNS SNPNQRHPIT NAIDGKNTW QSPSIKNGIE YHYVTITLDL QQVFQIAYVI VKAANSRPG NWILERSLDD VEYKPWQYHA VTDTECLTY NIYPRTGPPS YAKDDEVICT SFYSKIHPLE NGEIHISLIN GRPSADDPSP ELLEFTSARY IRLRFQIRT LNADLMMFAH KDPREIDPIV TRRYYSVKD ISVGGMCI CY GHARACPLDP ATNKSRCCE HNTCGDSCDQ CCPGFHQKPW RAGTFLTKTE CEACNCHGKA



Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		<p>EECYDENVA RRNLSLNIRG KYIGGVGIN CTQNTAGINC ETCTDGFRRP KGVSPNYPRP CQPCHCDPIG</p> <p>SLNEVCVKDE KHARRGLAPG SCHCKTGFGG VSCDRKACN CSGLSKNEED PCFGPCICKE</p> <p>NVEGGDCSRC KSGFFNLQED NWKGDECFC SGVSNRCQSS YWTYKIQDM SGWYLTDLPG RIRVAPQDD</p> <p>LDSPQQISIS NAEARQALPH SYYSAPAPY LGNKLPAVGG QLTFTISYDL EEEEEEDTERV LQLMIILEGN</p> <p>DLSISTAQDE VYLHPSEEHT NVLLLEESEF TIHGTHFPVR RKEFMTVLAN LKRVLLOITY SFGMDAIFRL</p> <p>SSVNLESAVS YPTDGSIAAA VEVQCPCPGY TGSSCESCW PRRRVNGTIF GGICEPCQCF GHAECDDDVT</p> <p>GECLNCKDHT GGPYCDKCLP GFYGEPTKGT SEDCQPCACP LNIPSNFSP TCHLDRSLGL ICDGCPVGYT</p> <p>GPRCERCAEG YFGQPSVPGG SCQPCQCNND LDFSIPGSD SLGSGCLICK PGTTGRYCEL CADGYFGDAV</p> <p>DAKNCQPCRC NAGGSFSEVC HSQTGQCECR ANVQGRCDK CKAGTFGLQS ARGCVPCNCN SFGSKSFDC</p> <p>ESGQCWCQPG VTGKKCDRCA HGYFNQEGG CTACECSHLG NNCDPKTGR C ICPNTIGEK CSKCAPNTWG</p> <p>HSITTGCKAC NCSTVGSLEF QCNVNTGQCN CHPKFSGAKC TECSRHWNY PRCNLDCFL PGTDATTCD</p> <p>ETKKCSCSDQ TGQCTCKVNV EGIHCDRCRP GKFGLDKNP LGCSSCYCFG TTTQCSEAKG LIRTWVTLKA</p> <p>EQTILPLVDE ALQHTTTKGI VFQHPFIVAH MDLMREDLHL EPFYWKLP EQ FEGKKLMAYG GKLKYAIYFE</p> <p>AREETGFSTY NPQVIIRGGT PTHARIIVRH MAAPLIGOLT RHEIEMTEKE WKYYGDDPRV HRTVTREDFL</p> <p>DILYDIHYIL IKATYGNFMR QSRSEISME VAEQGRGTTM TPPADLIEK DCPLGYSGLS CEACLPGFYR</p> <p>LRSQPGGRTG GPTLGTVCPC QCNGHSSLCD PETSICQNCQ HHTAGDFCER CALGYYGIVK GLPNDCCQCA</p> <p>CPLISSNNF SPSCVAEGLD DYRCTACPRG YEGQYCECA PGYTGSPGNP GGSCQCECD PYGSLPVPCD</p> <p>PVTGFCTCRP GATGRKCDGC KHWAREGWE CVFCGDECTG LLLGLDLARLE QMVSINLTG PLPAPYKMLY</p> <p>GLENMTQELK HLLSPQRAPE RLIQLAEGNL NTLVTEMNEL LTRATKVTAD GEQTGQDAER TNTRAKSLGE</p> <p>FIKELARDAE AVNEKAIKLN ETLGTRDEAF ERNLEGLQKE IDQMIKELRR KNLETKQKIA EDELVAEAL</p> <p>LKKVKKLFGE SRGENEEMEK DLREKLADYK NKVDDAWDLL REATDKIREA NRLFAVNQKN MTALEKKKEA</p> <p>VESGKRQIEN TLKEGNDILD EANRLADEIN SIIDYVEDIQ TKLPPMSEEL NDKIDDLQSE IKDRKLAEKV</p>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		SQAESHAAQL NDSSAVLDGI LDEAKNISFN ATAAFKAYSN IKDYIDEAEK VAKEAKDLAH EATKLATGPR GLLKEDAKGC LQKSFRIILNE AKKLANDVKE NEDHLNGLKT RIENADARNG DLLRTLNDTL GKLSAIPNDT AAKLQAVKDK ARQANDTAKD VLAQITELHQ NLDGLKKNYN KLADSVAKTN AVVKDPSKNK IADADATVK NLEQEADRLI DKLKPIKELE DNLKKNISEI KELINQARKQ ANSIKVSVS GDCIRTYKP EIKKGSYNNI VVNVKTAVAD NLLFYLGS AK FIDFLAIEMR KGKVSFLWDV GSGVGRVEYP DLTIDDSYWY RIVASRTGRN GTISVRALDG PKASIVPSTH HSTSPPGYTI LDVDANAMLF VGGLTGKIKK ADAVRVITFT GCMGETYFDN KPIGLWNFRE KEGDCKGCTV SPQVEDSEGT ATRDLRDFMS VELTDGHIKV SYDLGSGMAS VVSNQNHNDG KWKSFTLSRI QKQANISIVD IDTNOEENIA TSSSGNNFGL DLKADDKIYF GGLPTLRNLS MKARPEVNLK KYSGLCKDIE ISRTPYNILS SPDYVGVTGK CSLENNVTVS FPKPGFVELS PVPIDVGTEI NLSFSTKNES GIILLGSGGT PAPPRRKRQ TGQAYYVILL NRGRLVHLS TGARTMRKIV IRPEPNLFHD GREHSHVHER TRGIFTVQVD ENRRYMQNLT VEQPIEVKKL FVGAPPEFQ PSPLRNIPFF EGCIWNLVIN SVPMDFARPV SFKNADIGRC AHQKLEDED GAAPAEIVIQ PEPVPTPAFP TPTPVLTHGP CAAESEPALI IGSKQFGLSR NSHIAIAFDD TKVKNRLTIE LEVRTEAESG LLFYMAAINH ADFATVQLRN GLPYFSYDLG SGDTHMTIPT KINDGQWHKI KIMRSKQEGI LYVDGASNRT ISPKKADILD VVGMLYVGGI PINYTTRRIG PVTYSIDGCV RNLHMAEAPA DLEQPTSSFH VGTCFANAQR GTYFDGTGFA KAVGGFKVGL DLLVEFEFFAT TTTTGVLLGI SSQKMDGMGI EMIDEKLMFH VDNAGRFTA VYDAGVPGHL CDGQWHKVTA NKIKHRIELT VDGNOVEAQS PNPASTSADT NDPVFVGGFP DDLKQFGLTT SIPFRGCIRS LKLTGTASH WRLILPRPWN
8	Elastin	MAGLTAAAPR PGVLLLLLSI LHPSRPGGVP GAIPGGVPGG VFYPGAGLGA LGGALGPGG KPLKVPVGGI AGAGLGAGLG AFPVTFPGA LVPGGVADAA AAYKAAKAGA GLGGVPGVGG LGVSAGAVVP QPGAGVKPGK VPGVGLPGVY PGGVLPGARF PGVGLPGVP TGAGVKPKAP GVGAFAFAGIP GVPGFGPQP GVPLGYPIKA PKLPGGYGLP YTTGKLPGY GPGGVAGAAG KAGYPTGTGV GPQAAAAAAA KAAAKFGAGA AGVLPVGGA

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		GVPGVPGAIP GIGGIAGVGT PAAAAAATAA AKAAYGAAA GLVPGGPGFG PGVVGVPGAG VPGVGVPGAG IPVVPGAGIP GAAVPGVVSP EAAAKAAAKA AKYGARPGVG VGGIPTYGVG AGGFPFGVG VGGIPGVAGV PSVGGVPGVG GVPGVGISPE AQAAAAAKAA KYGVGTPTAA AAKAAAKAAQ FALLNLGLV PGVGVAPGVG VAPGVGAPG VGLAPGVGA PGVGVAPGVG VAPGIGPGGV AAAAKSAKV AAKAQLRAAA GLGAGIPGLG VGVGVPGLV GAGVPGLVG AGVPGFGAVP GALAAAKAAK YGAAVPGVLG GLGALGGVGI PGGVVGAGPA AAAAAAKAAA KAAQFGLVGA AGLGGLGVGG LGVPGVGGLG GIPPAATAA AKYGAAGLGG VLGAGQFPL GGVAARPGFG LSPIFPGGAC LGKACGRKK
9	Alpha-2 type IV collagen	MGRDQRAVAG PALRRWLLLG TTVTGFLAQS VLAGVKKFDV PCGGRDCSGG CQCYPEKGR GQPGVGPQG YNGPPGLQGF PGLQGRKGD K GERGAPVGTG PKGDVGARGV SGFPGADGIP GHPGQGGPRG RPYDGCNGT QGDSGPQGGP GSEGFTGPPG PQGPKGQKE PYALPKEERD RYRGEPEPG LVGFQGGPRG PGHVGMGPV GAPRPGPPG PPGPKGQQGN RGLGFYGVKG EKGDVGQGP NGIPSDTLHP IIAPTGVTFH PDQYKGEKGS EGEPIRGIS LKGEEGIMGF PGLRGYPGLS GEKSGPGKG SRGLDGYQGP DGPRGPKGEA GDPGPPGLPA YSPHPSLAKG ARGDPGFPGA QGEPGSQGE GDPGLPGPPG LSIGDGDQRR GLPGEMGPKG FIGDPPGIPAL YGGPPGPDGK RGPPGPPGLP GPPGPDGFLF GLKGAAGRAG FPGLPGSPGA RPKGWKGA GECRCDE AIKGLPGLPG PKGFAGINGE PGRKGDKGD GQHGLPGFPG LKGVPGNIGA PGPKGAKGDS RTITTKGERG QPGVPGVPM KGDDGSPGRD GLDGFPGLPG PPGDGKGP GDPGYPGIPG TKGTPGEMGP PGLGLPGLKG QRGFPDAGL PGPPGFLGPP GPAGTPGQID CDTDVKRAVG GDRQEAQPG CIAGPKGLPG LPGPPGPTGA KGLRGIPGFA GADGGPGPRG LPGDAGREGF PGPPGFIGPR GSKGAVGLPG PDGSPGPIGL PGPDGPPGER GLPGEVLGAQ PGPRGDAGVP GQGLKGLPG DRGPPGFRGS QGMPGMPGLK GQGLPGPSG QPGLYGPPL HGFPAGPQE GPLGLPIPG REGLPDGRD PGDTGAPGPV GMKGLSGDRG DAGFTGEQGH PGSPGFKGID GMPGTPGLKG DRGSPGMDGF QGMPGLKGRP GFPGSKGEAG FFGIPGLKGL AGEFGKGRS GDPGPPGPPP

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		VILPGMKDIK GEKGDEGPMG LKGYLGAKGI QGMPGIPGLS GIPGLPGRPG HIKGVKGDIG VPGIPGLPGF PGVAGPPGIT GFPFGISRG DKGAPGRAGL YGEIGATGDF GDIGDTINLP GRPGLKGERG TTGIPGLKGF FGEKGTEDI GFPGITVTG VQGPPLKGQ TGFPGLTGP GSQGLGRIG LPGAQKDDGW PGAPGLPGFP GLRGIRLHG LPGAQKDDGW PGAPGLPGFP GSQGLGRIG LPGAQKDDGW PGAPGLPGFP SPGLQGFPGI TPPSNISGAP GKGAPGIFG LKGYRGPFGP PGSAALPGSK GDTGNPGAPG TPGTKGWAGD SGPQGRPGVF GLPGEKGPRG EQGFMGNTGP TGAVGDRGPK GPKGDPGFPG APGTVGAPGI AGIPQKIAIQ PGTVGPQGRR GPPGAPGEIG PQGPPGEPGF RGAPGKAGPQ GRGGVSAVPG FRGDEGPIGH QGPIGQEGAP GRPGSPGLPG MPGRSVSIGY LLVKHSQTDQ EPMCPVGMNK LWSGYSLLYF EGQEKAHNQD LGLAGSCLAR FSTMPFLYCN PGDVCYYASR NDKSYWLSTT APLPMPVAE DEIKPYISRC SVCEAPAIAI AVHSQDVSIP HCPAGWRSBW IGYSFLMHTA AGDEGGQSL VSPGSCLEDF RATPFIECNG GRGTCHYYAN KYFWLTTIP EQSFQGPSA DTLKAGLIRT HISRCQVCMK NL
10	p27	MEASALTSSA VTSVAKVVRV ASGSVVVLP ARIATVVIGG VVMAAVPMV LSAMGFTAAG IASSIAAKM MSAAAIANGG GVASGSLVGT LQSLGATGLS GLTKFILGSI GSAIAAVIAR FY
11	Reticulocalbin	MARGGRGRL GLALGLLLAL VLAPRVLRK PTVRKERVVR PDSELGEPV EDNQSFQYDH EAFLGKEDSK TFDQLTPDES KERLGKIVDR IDNDGDGFVT TEELKTWIKR VQKRYIFDNV AKVWKDYDRD KDDKISWEEY KQATYGYLNG NPAEFHDSSD HHTFKKMLPR DERRFKAADL NGDLTATREE FTAFLHPPEEF EHMKEIVVLE TLEDIDKNGD GFVDQDEYIA DMFSHEENG EPDWVLSERE QFNEFRDLNK DGKLDKDEIR HWILPQDYDH AQAEARHLVY ESDKNKDEKL TKEEILENWN MFVGSQATNY GEDLTKNHDE L
12	Aldehyde dehydrogenase 6	MATANGAVEN GOPDGKPPAL PRPIRNLEVK FTKIFINNEW HESKSGKKFA TCNPSTREI CEVEEGDKPD VDKAVEAAQV AFQRGSPWRR LDALSRGRL HQLADLVERD RATLAALETM DTGKPFLLHAF FIDLEGCIPT

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		LRYFAGWADK IQGKTIPTDD NVVCFTTRHEP IGVCGAITPW NFPLLMLVWK LAPALCCGNT MVLKPAEQTP LTALYLGSLI KEAGFPPGVV NIVPGFGPTV GAIISSHPQI NKIAFTGSTE VGKLVKEAAS RSNLKRVTLE LGGKNPCIVC ADADLDLAVE CAHQGVFFNQ GQCCTAASRV FVEEQVYSEF VRRSVEYAKK RPYGDPFDVK TEQGPQIDQK QFDKILELIE SGKKEGAKLE CGGSAMEDKG LFIKPTVFSE VTDNMRIAKE EIFGPVQPIL KFKSIEEVIK RANSTDYGLT AAVFTKNLDK ALKLASALES GTVWINCYNA LYAQAPFGGF KMSGNGRELG EYALAEYTEV KTVTIKLGDK NP
13	Gravin	MGAGSSTEOR SPEQPEGSS TPAEPEPSGG GPSAEAAPDT TADPAIAASD PATKLLQKNG QLSTINGVAE QDELSLQEGD LNGQKGALNG QGALNSQEEE EVIVTEVGQR DSEDVSRDS DKEMATKSAV VHDITDDGQE ENRNIEQIPS SESNLEELTQ PTESQANDIG FKVKFKFVGF KFTVKKDKTE KPDTVQLLTV KKDEGEAAG AGDHQDPSLG AGEAAKESKE PKQSTEKPEE TLKREQSHAE ISPPAESGQA VEECKEEGEE KQEKEPSKSA ESPTSPVTSE TGSTFKKFFT QGWAGWRKKT SFRKPKEDV EASEKKKEQE PEKVDTEEDG KAEVASEKLT ASEQAHPQEP AESAHEPRLS AEYEKVELPS EEQVSGSQGP SEEKPAPLAT EVFDEKIEVH QEEVVAEVHV STVEERTEEQ KTEVEETAGS VPAEELVGMD AEPQEAEPK ELVKLKETCV SGEDPTQAD LSPDEKVLK PPEGVVSEVE MLSSQERMKV QGSPLKKLFT STGLKKLSGK KQKGRGGD EESGEHTQVP ADSPDSQEEQ KGESSASSPE EPEEITCLEK GLAEVQQDGE AEEGATSDGE KKREGVTPWA SFKKMVTPKK RVRRPSESDK EDELDKVKS A TLSTESTAS EMQEMKGSV EEPKPEEPKR KVDTSVSWEA LICVGSKKR ARRRSSDEE GGPKAMGDDH OKADEAGKDK ETGTDGILAG SQEHDPGQGS SSPEQAGSPT EGEVSTWES FKRLVTPRKK SKSKLEEKSE DSIAGSGVEH STPDTEPGKE ESWVSIKKFI PGRKKRPDG KOEQAPVEDA GPTGANEDDS DVPVAVPLSE YDAVEREKME AQQAQKGAEQ PEQKAATEVS KELSEQVHM MAAAVADGTR AATIIERSP SWISASVTEP LEQVEAEAL LTEEVLREV IAEEEEPTVT EPLPENREAR GDTVSEAEEL TPEAVTAAET AGPLGSEEGT EASAAEETTE MVSAVSQSLTD SPDTTEEATP VQVEGGVPD IEEQERRTQE VLQAVAEKVK

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		<p> EESQLPGTGG PEDVLQPVQR AEAERPEEQ A EASGLKKETD VVLKVDQEA KTEPFTQGV VGQTPESFE  KAPQVTEIE SSELVTTCQA ETLAGVKSQE MVMEQAIPPD SVETPTDSET DGSTPVADFD APGTTQKDEI  VEIHEENEVA SGTQSGGTEA EAVPAQKERP PAPSSFVFQE ETKEQSKMED TLEHTDKEVS VETVSILSKT  EGTQEADQYA DEKTKDVPFF EGLEGSIDTG ITVSREKYTE VALKGEGTEE AECKKDDALE LQSHAKSPPS  PVEREMVVQV EREKTEAEPT HVNEEKLHE TAVTVSEEV KOLLQTVNVP IIDGAKEVSS LEGSPPPCLG  QEEAVCTKIQ VQSSEASFTL TAAAEKVL GETANILETG ETLEPAGAH VLEEKSEKN EDFAAHPGED  AVPTGPDCA KSTPVIVSAT TKKGLSSDLE GEKTTSLKWK SDEVDEQVAC QEVKVSVAIE DLEPENGILE  LETKSSKLQ NIIQTAVDQF VRTEETATEM LTSELQTAH VIKADSQDAG QETEKEGEEP QASAQDETPI  TSAKEESEST AVGOAHSDIS KDMSEASEKT MTVEVEGSTV NDQQLEEVVL PSEEEGGGAG TKSVPEDDGH  ALLAERIEKS LVEPKDEKG DDVDDPENQN SALADTDASG GLTKESPDTN GPKQKEKEDA QEVELQEGKV  HSESDKAITP QAQEELQKQE RESAKSELTE S </p>
14	Nidogen	<p> MLASSSRIRA AWTRALLPL LLAGPVGCLS RQELFPFGPG QGDLELEDGD DFVSPAELS GALRFYDRSD  IDAVYVTNG IATSEPPAK ESHPLFPPT FGAVAPFLAD LDTTDGLGV YYREDLSPSI TQRAAECVHR  GFPEISFQPS SAVVTWESV APYQGPSRDP DQKGRNTFQ AVLASSDSSS YAIFLYPEDG LQHTTFSKK  ENNQVPAVVA FSQGSVGFLW KSNAYNIFA NDRESIENLA KSSNSGQGV WVEIGSPAT TNGVVPADVI  LGTEDEGAEYD DEDEDYDLAT TRLGLEDVGT TPFSYKALRR GGADTYSVPS VLSPRRAATE RPLGPPPERT  RSFQLAVETF HQQHPQVIDV DEVEETGVVF SYNTDSRQTC ANNRHQCSVH AECDYATGF CCSCVAGYTG  NGRQCVAECS PQRVNGKVKG RIFVGSSQVP IVFENTDLHS YVMNHGRSY TAISTIPETV GYSLPLAPV  GGIIGWMFAV EQDGFKNFIS ITGGEFTQA EVTFVGHGPN LVIKQRFSGI DEHGLTIDT ELEGRVPQIP </p>



Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		FGSSVHIEPY TELYHYSTSV ITSSSTREYT VTEPERDGAS PSRIYTYQWR QTITFQECVH DDSRPALPST QQLSVDSVFV LYNQEEKILR YAFSNSIGPV REGSPDALQN PCYIGTHGCD TNAACRPGPR TQFTCECSIG FRGDGRTCYD IDECSEQPSV CGSHTICNNH PGTFRCCEVE GYQFSDEGTC VAVVDQRPIN YCETGLHNCD IPQRAQCIYT GGSSYTCSCCL PGFSGDGQAC QDVDECQPSR CHPDAFCYNT PGSFTCQCKP GYQGDGFRVCV PGEVEKTRCQ HEREHILGAA GATDPQRPPI PGLFVPECDA HGHYAPTQCH GSTGYCWCVD RDGREVEGTR TRPGMTPPCL STVAPPIHQG PAVPTAVIPL PPGTHLLFAQ TGKIERLPLE GNTMRKTEAK AFLHVPKAKVI IGLAFDCVDK MYYWTDITEP SIGRASLHGG EPTTIIRQDL GSPEGIAVDH LGRNIFWTDS NLDRIEVAKL DGTQRRVLFE TDLVNPRGIV TDSVRGNLYW TDWNRDNPKE ETSYMDGTNR RILVQDDLGL PNGLHFDAPS SOLCWVDAGT NRAECLNPSQ PSRRKALEGL QYPFAVTSYG KNLYFTDWKM NSVVALDLAI SKETDAFQPH KQTRLYGITT ALSQCPOGHN YCSVNNGGCT HLCLATPGSR TCRCPDNTLG VDCIERK
15	Phospholipase Epsilon	C MPSEKKISSA NDCISFMQAG CELKKVRPNS RIYNRFFFTLD TDLOALRWEF SKKDLEKAKL DISAIKEIRL GKNTETFTNN GLADQICEDC AFSILHGENY ESLLDLVANS DVANIWVSG L RYLVSRSKQP LDFMEGNQNT PRFMWLKTVF EAADVVDNGI MLEDTSVELI KQLNPTLKEA KIRLKFKEIQ KSKEKLTTTRV TEEEFCEAFC ELCTRPEVYF LLVQISKKE YLDANDLMLF LEAEQGVTHI TEDICLDIIR RYELSEEGRQ KGFLAIDGFT QYLLSSECDI FDPEQKKVAQ DMTQPLSHYY INASHNTYLI EDQFRGPADI NGYIRALKMG CRSVELDVSD GSDNEPILCN RNNMTTHVSF RSVIEVINKF AFVASEYPLI LCLGNHCSLP QQKVMAQQMK KVFGNKLYTE APLPSESYP SPEKLKRMII VKGKKLPSPD DVLEGEVTDE DEEAQMSRRM SVDYNGEQKQ IRLCRELSDL VSICKSVQYR DFELSMKSQN YWEMCSFSET EASRIANEYP EDFVYNKKF LSRIYPSAMR IDSSNLPQD FWNCGCQIVA MNFQTPGPM DLHTGWFLQN GCGYVLRPS IMRDEVSYFS ANTKGILPGV SPLALHIKII SGQNFPPKPG ACAKGDVIDP YVCIEIHGIP ADCSEQRTKT VQONSNDPIF DETFEFQVNL PELAMIRFVV LDDDYIGDEF IGQYTIPFEC LQPGYRHVPL RSFVGDIMEH VTLFVHIAIT NRSGGGKAQK RSLSVRMGKK

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		VREYTMLRNI GLKTIDDDIFK IAVHPLREAI DMRENMQNAI VSIKELCGLP PIASLKQCCLL TLSSRLITSD NTPSVSLVMK DSFPYLEPLG AIPDVQKKML TAYDLMIQES RFLIEMADTV QEKIVQCQKA GMEFHEEHLHN LGAKEGLKGR KLNKATESFA WNITVLKGQG DLLKNAKNEA IENMKQIQLA CLSCGLSKAP SSSAEAKSKR SLEAIEEKES SEENGKL

US 0996140302P1



Creation date: 25-03-2003  
Indexing Officer: YGEZAHEGN - YONATHAN GEZAHEGN  
Team: CENTRALSCANPRINT  
Dossier: 09961403

Legal Date: 29-01-2002

No.	Doccode	Number of pages
1	SEQLIST	59
2	CRFS	2
3	PEFR	5
4	NDRW	1
5	DRW	30
6	OATH	4

Total number of pages: 101

Remarks:

Order of re-scan issued on .....